Feel so Bio 19キットシリーズ

#002 DNA抽出 キット

取扱説明書

ver.1.3

コスモ・バイオ株式会社

目次

本キットの特徴 ･･･ 2

キット使用時に必要な試薬・機材等の一覧 ･･･ 3

内容物について ･･･ 4

分注について ･･･ 4

DNAについて ･･･ 5，6

実験手順 ･･･ 7

実験原理 ･･･ 8，9

本キットの特徴

本キットは、サケの精巣からDNAを抽出するキットです。本キットを使うと、大量のDNAを効率よく取り出すことが可能です。

現在のバイオテクノロジーは、すべての生物が持っている「DNA」の分析からすべてが始まりました。

本キットを通じて、DNAを目で見て、手で触れて感じることができます。その体験を通じ、DNAについて深く理解するきっかけを得ることが可能です。

キット使用時に必要な試薬・機材等の一覧

キット内容 【生徒20名（2人一組）分】

・サケ精巣		15g
・薬さじ		10本
・フィルター		10個
・シャーレ		10個
・攪拌棒		10本
・NaCl		58.5g
・SDS		4.5g
・取扱説明書	（本書）	1冊

本キット以外に必要な試薬・機材一覧

・エタノール（99.5％） 400mL

・蒸留水 1000mL

水道水でも代用できます。

・ビーカー 40個

NaCl,エタノール、蒸留水、SDSを分注します。

プラスチックコップでも代用できます。

・ウォーターバス 1~2台

60度のお湯を用意するために必要です。

※機材につきましては弊社で取り扱っております。ご入用の際にはお問合せ下さい。

内容物について

サケ精巣

サケの精巣は多量の細胞からできており、多量のDNAを含みます。本実験キットではサケの精巣から、目視するのに十分なDNAを抽出することができます。
必ず冷凍保存し、使用直前に常温にて解凍してご使用ください。

NaCl（58.5g）

500mlの蒸留水に溶解してご使用ください。また、室温にて保存してください。

SDS（4.5g）

45mlの蒸留水に溶解してご使用ください。室温では溶解しにくいため、60℃程度で湯煎しながら溶解してください。
※目や鼻の粘膜に付着すると危険ですので、あたりに飛び散らないよう、注意してご使用下さい。
※溶解したSDSは室温にて保存してください。

分注について

班構成

本実験キットでは4人1班（実験は2人一組）を推奨しています。

機材一組分

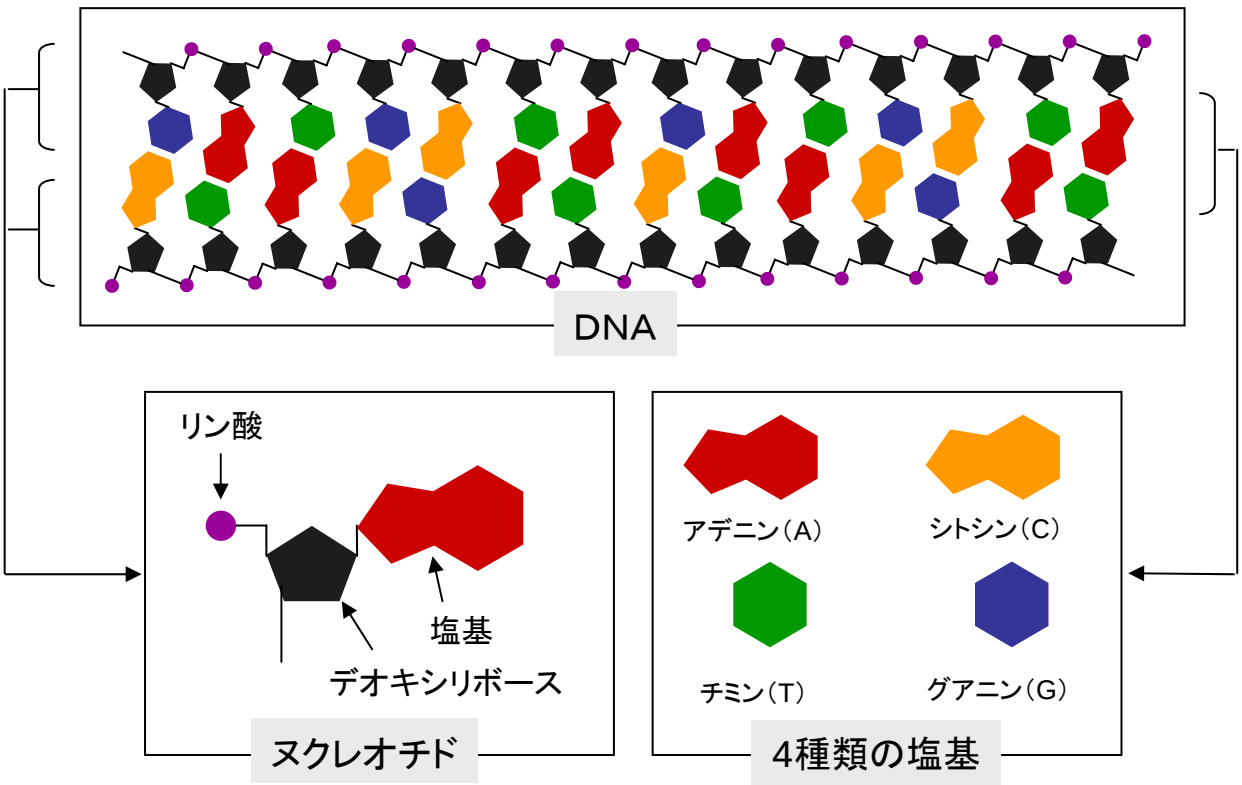
サケ精巣	…1g	
薬さじ	…1個	
シャーレ	…1個	
攪拌棒	…1本	
SDS	…4ml	※
NaCl	…40ml	※

※内容物についての項に従って試薬を溶解してください。

DNAについて

DNAの構造

DNAは、デオキシリボ核酸・Deoxyribo Nucleic Acidの頭文字を取ったもので、リン酸、デオキシリボースという五炭糖、塩基からなるヌクレオチドという分子が連なった、生体高分子です。下図は、DNAの構造を簡単に表した図です。



塩基にはアデニン・チミン、グアニン・シトシンの4種類があり、それぞれA・T・G・Cと略されています。このうちAとT、GとCは水素結合とよばれる弱い結合で結ばれる性質を持っています。図を見ると、AとT、GとCがお互いに結合しあっているのが分かります。このようにして、ヌクレオチドが結合しあって鎖状になった構造が2本向かい合い、有名な「二重らせん」といわれる構造となるのです。

DNAの働き

DNAがヌクレオチドの連なった構造を持つこと、また4種類の塩基からなることは、DNAの働きを考える上で非常に重要です。

それは、DNAの塩基の並び方（塩基配列）が、体の構成や物質の代謝などを行うタンパク質の構造を決めているためです。タンパク質は、20種類のアミノ酸が連なり、アミノ酸同士の化学的性質によって複雑な構造をとっています。DNAの塩基配列は、このアミノ酸の並び方を決定しています。

DNAの塩基配列 → アミノ酸の並び方 → タンパク質の構造

塩基配列がアミノ酸の並び方を決定する方法は、暗号解読に良く似ています。下の表のように、3つの塩基でひとつのアミノ酸を決定しており、そのアミノ酸が結合することで、タンパク質がつくられます。

1番目の塩基		2番目の塩基								3番目の塩基
		T		C		A		G		
T		TTT	フェニルアラニン	TCT	セリン	TAT	チロシン	TGT	システイン	T
		TTC		TCC		TAC		TGC		C
		TTA	ロイシン	TCA		TAA	－	TGA	－	A
		TTG		TCG		TAG		TGG	トリプトファン	G
C		CTT	ロイシン	CCT	プロリン	CAT	ヒスチジン	CGT	アルギニン	T
		CTC		CCC		CAC		CGC		C
		CTA		CCA		CAA	グルタミン酸	CGA		A
		CTG		CCG		CAG		CGG		G
A		ATT	イソロイシン	ACT	トレオニン	AAT	アスパラギン酸	AGT	セリン	T
		ATC		ACC		AAC		AGC		C
		ATA		ACA		AAA	リジン	AGA	アルギニン	A
		ATG	メチオニン	ACG		AAG		AGG		G
G		GTT	バリン	GCT	アラニン	GAT	アスパラギン	GGT	グリシン	T
		GTC		GCC		GAC		GGC		C
		GTA		GCA		GAA	グルタミン	GGA		A
		GTG		GCG		GAG		GGG		G

しかし、DNAの塩基配列のすべての領域がタンパク質の構造（アミノ酸の並び）を決定しているわけではありません。実際にタンパク質の構造を決定するのはDNA上の「遺伝子」とよばれる領域のみです。ヒトの場合、DNAは30億塩基対からなりますが、その中で遺伝子領域は約5%程度存在していると考えられています。

実験手順

本キットでは、サケの精巣からDNAを抽出します。
※二人一組で実験を行なうように設定してあります。

1）サケの精巣1gをシャーレにのせ、10mLの蒸留水を加えながら薬さじですりつぶします。

2）すりつぶした精巣を、フィルターで漉してビーカーに移し、30mLの蒸留水を加えます。

3）2）のビーカーに4mlの10％ SDS溶液を加え、ゆっくりと撹拌します。

4）さらに2M NaCl溶液を10mL加え、撹拌棒を用いてゆっくりと撹拌します。

5）4）のビーカーを60℃のお湯で湯煎しながら、粘度が低くなるまでゆっくりと撹拌します（約5分）。火傷にご注意ください。

6）お湯からビーカーを取り出し、30mLの2M NaCl溶液を加えてゆっくりと撹拌しながら、室温程度まで溶液を冷まします。

7）撹拌棒を伝わらせて、100％エタノールを加えます。DNAが沈殿し、白い糸状の物質として可視化します。DNAが見えにくいときは、攪拌棒でゆっくりとビーカーをかき混ぜてください（急激に攪拌すると見えにくくなる場合がございます。ご注意ください）。

実験原理

Step.1　細胞をバラバラにする（手順1）

DNAは細胞の核の中にあります。そのため、DNAを取り出すためには細胞を壊さなければなりません。しかし、動物や植物は多細胞生物と呼ばれ、たくさんの細胞が集まって体を形作っています。そのため、効率良く細胞を壊すためには、まずこの細胞の塊を崩して細胞をバラバラにする必要があります。そこで実験では、薬さじを用いて精巣をすり潰し、細胞をバラバラにします。

Step.2　細胞を壊す（手順3）

細胞は細胞膜とよばれる膜で包まれています。そのため細胞を壊し細胞内のDNAを取り出すためには細胞膜を破る必要があります。細胞膜はリン脂質とタンパク質から出来ています。リン脂質は疎水性の領域と親水性の領域とをもち、互いに疎水性領域を向き合わせた形で細胞膜を形成しています。ここに界面活性剤であるSDSを加えると、脂質は乳化され細胞膜が壊れます。

Step.3　DNAとタンパク質を分ける（手順4～6）

きれいなDNAを抽出するためには、DNAに結合しているタンパク質を除く必要があります。というのも、細胞の中にはたくさんのタンパク質が存在し、なかにはDNAに結合して働いているものもたくさんあるからです。

DNAは全体的に負に帯電しており、DNAに結合するタンパク質のDNA結合領域は正に帯電しています。そのためNaイオンを加えることにより、タンパク質を除去することが出来ます。

60度のお湯での湯煎もDNAからタンパク質を除く目的で行います。温度を上げることにより、タンパク質が変性しやすくなり、DNAからタンパク質がはがれていくのです。

- この状態で更にNaイオンを加えることで、DNAから出来る限り多くのタンパク質を除くことが出来るのです。

Step.4　DNAを沈澱させる（手順7）

Step.3まででではDNAは水に溶けているため、目で確認することが出来ません。そこで、エタノールを加えることにより、DNAを沈澱させます。エタノールはDNAの周りの水を除去し、DNAの沈澱を助けます。DNAは糸状の白い構造体として現れるため、ガラス棒でかき混ぜることで巻取ることが出来ます。

ご使用上の注意

本製品は、バイオ教育を目的として開発されたキットです。本取扱説明書に記載されたプロトコル以外での使用につきましては、保証の限りではございません。

商品のご返品について

商品のご返品につきましては、弊社の確認を必要とさせていただきます。この確認なしでのご返品はご遠慮ください。適切な保存、ご使用をされていない製品についてはご返品をお受けできない場合がございます。また、品質保持のために返品された製品を再販することは一切ございません。

カスタマーサポート

Feel so Bioシリーズ　カスタマーサポート係
TEL：03-6277-8041
FAX：03-6277-8042
Mail：info@feelsobio.net

※FAXをご利用の場合は、同封のFAX用紙にご記入の上ご送信ください。

製造・販売元

株式会社リバネス http://www.leaveanest.com

〒160-0004
東京都新宿区四谷2-8 藤井ビル5F
TEL 03-6277-8041
FAX 03-6277-8042

販売

コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016　東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
TEL：(03) 5632-9610　FAX：(03) 5632-9619
e-mail：mail@cosmobio.co.jp
URL：http://www.cosmobio.co.jp/